

А.Б. Юркевич

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННОГО АНОЛИТА НЕЙТРАЛЬНОГО

Витебский государственный
медицинский университет

*Установлено, что анолит нейтральный, полученный электрохимическим путем на установке типа «Аквamed», проявляет достаточно высокий уровень антимикробной активности ($RF > 5 \lg$) в отношении *S.aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *P.mirabilis*, а также грибов рода *Candida* на резиновых носителях в концентрации 200 мг/дм^3 в течение 30 и 60 мин. Актуальность задач обуславливается неудовлетворительной эпидемической ситуацией и по отдельным болезням (СПИД, SARS, гепатит В, С). Электрохимически активированный анолит можно рекомендовать в качестве дезинфицирующего средства для применения в лечебно-профилактических, фармацевтических, санитарно-противоэпидемических и других учреждениях.*

ВВЕДЕНИЕ

С увеличением техногенного воздействия со стороны людей на окружающую среду получили ускорение и темпы эволюции микроорганизмов, вызывающих инфекционные заболевания. В связи с этим, за последние десятилетия изменились условия и образ жизни общества, возросли и медико-санитарные требования, предъявляемые к различным сферам деятельности человека. Поэтому борьба с инфекционными болезнями является одной из актуальных задач практического здравоохранения. Одним из методов профилактики инфекционной заболеваемости является дезинфекция.

В медицинских учреждениях, где строгий санитарно-противоэпидемический режим связан с профессиональной деятельностью врачей и с наличием непосредственного контакта с больными людьми, используется огромный ассортимент дезинфицирующих средств.

Качественное изготовление лекарственных средств в аптеках, создание необходимых условий труда персонала, предупреждение внутриаптечной инфекции также возможно только при строгом соблюдении санитарно-противоэпидемического режима. Не последнее место в решении этого вопроса занимает дезинфекция, эффективность которой обусловлена временем воздействия, концентрацией используемых растворов, условиями их применения и температурой [1]. В производственных аптеках широко используются различные дезинфектанты – спирты, кислород-, альдегид-, фенолсодержащие средства. Тем не менее, препаратами выбора как в лечебно-профилактических организациях, так и в фармацевтических учреждениях остаются хлорсодержащие препараты, как обладающие широким спектром биоцидной активности. Но хлорсодержащие дезинфектанты обладают рядом недостатков [2]. В процессе приготовления и эксплуатации они выделяют значительные количества активного хлора, оказывающего токсическое действие на персонал, вызывают деструкцию обрабатываемых материалов и ухудшают экологическое состояние окружающей среды, так как разлагаются с образованием хлораминов и полифенолов [3]. Поэтому получение новых высокоэффективных, малотоксичных, экологически чистых и дешёвых препаратов актуально и перспективно. На сегодняшний день этим требованиям отвечают анолиты, полученные путем электрохимической активации слабоминерализованного раствора натрия хлорида на установках, как отечественного, так и зарубежного производства. В Республике Беларусь для их получения используются установки первого поколения типа «БАВР» и новые – типа «Аквamed», которые дают

возможность получения нейтральных дезинфицирующих анолитов, не обладающих коррозионной способностью по отношению к различным материалам. Однако антибактериальная активность нейтральных анолитов изучена лишь в количественном и качественном суспензионных тестах. В суспензионных тестах взвешенные в растворе натрия хлорида бактерии взаимодействуют с растворённым в этой же среде дезинфектантом. В биотопах, в которые в естественных условиях вносится дезинфектант, бактерии находятся в состоянии адгезии на клетках и волокнах, а дезинфектант растворён в тканевой жидкости, прежде всего в её липидной фракции. В связи с неадекватностью места обитания микроорганизмов и среды взаимодействия данные, полученные при использовании суспензионных тестов, нуждаются в коррекции. Для этой цели применяют тесты

с носителями тест-штаммов бактерий, в качестве которых используют ткань, керамику, стекло, металл, резину, искусственную кожу, кожу живого человека [4].

Учитывая изложенное, целью настоящего исследования было изучение антимикробной активности анолита нейтрального, полученного на установке типа «Аквamed» на резиновых тест-объектах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анолиты получали на установке «Аквamed» методом электрохимической активации растворов натрия хлорида 3 г/дм³. Для исследования брали растворы анолитов с концентрацией активного хлора 100, 150, 200, 250 мг/дм³. Физико-химические параметры испытуемых анолитов представлены в таблице 1.

Таблица 1.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ АНОЛИТА, ПОЛУЧЕННОГО НА УСТАНОВКЕ «АКВАМЕД»

Параметры	№1	№2	№3	№4	№5	№6
pH	6,75	6,70	6,65	6,55	6,65	6,55
ОВП, мВ	+930	+895	+890	+885	+915	+925
C _{ак} , мг/дм ³	100	150	200	250	300	400

Для оценки антимикробной активности анолитов нейтральных использовали метод, основанный на контаминации резиновых тест-объектов культурами тест-микробов *E.coli* ATCC 11229, *S.aureus* ATCC 6538, *P.aeruginosa* ATCC 15412, *P.mirabilis* ATCC 14153, а также *C.albicans* ATCC 10231 [5-7].

В первой серии опытов проводили качественный тест для определения минимальной бактерицидной концентрации (МБК) анолита нейтрального. Для этого кусочки резиновой трубки диаметром 6-7 мм и длиной 10 мм стерилизовали. Затем готовили взвеси суточных тест-культур в физиологическом растворе и с добавлением 20% лошадиной сыворотки. Резиновые тест-объекты заливали взвесями тест-микробов в отдельных пробирках. Через 5 мин тест-объекты переносили на стериль-

ную фильтровальную бумагу в чашке Петри и высушивали. Резиновые тест-объекты по 6 штук переносили в пустые стерильные флаконы, в которые затем наливали исследуемые анолиты №№ 1-4, тщательно встряхивали. По истечении экспозиции дезинфектанта (30 и 60 мин) по два тест-объекта на каждую экспозицию переносили в пробирки с раствором нейтрализатора, встряхивали. Через 10 мин тест-объекты переносили в пробирки с 5 мл МПБ (каждый тест-объект в отдельную пробирку). Для контроля по 2 контаминированных тест-культурами тест-объекта заливали стерильной водопроводной водой на 60 мин (наибольшая экспозиция дезинфектанта), по истечении экспозиции переносили в пробирки с раствором нейтрализатора на 10 мин, а затем – в пробирки с МПБ. Посевы инкубировали в термостате

48 ч при 37°С. Затем петлей проводили высеив на сектора чашек со средами АГВ, ЖСА, Эндо и Сабуро. Чашки инкубировали 24 ч при 37°С. Результаты учитывали по наличию или отсутствию роста тест-

микробов на чашках в опыте при наличии роста в контроле. Для каждой тест-культуры и экспозиции устанавливали МБК дезинфектанта.

Таблица 2

**МИНИМАЛЬНАЯ АНТИМИКРОБНАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ
АНОЛИТОВ НЕЙТРАЛЬНЫХ В КАЧЕСТВЕННОМ СУСПЕНЗИОННОМ ТЕСТЕ
НА РЕЗИНОВЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТАХ**

Анолит		Культуры бактерий											
		E.coli	S. aureus	P.aeruginosa	P. mirabilis	B. subtilis	C. albicans	E.coli	S. aureus	P. aeruginosa	P. mirabilis	B. subtilis	C. albicans
б е з б е л к .	№	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	№2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
	№3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
	№4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
20% И С	№1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	№2	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
	№3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	№4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Контроль		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Экспозиция		30 минут						60 минут					

Во второй серии опытов в количественном методе определяли степень эффективности анолитов №№ 1-4. Для этого контаминированные тест-объекты по истечении времени экспозиции анолита нейтрального (30 и 60 мин) переносили в раствор нейтрализатора. Через 10 мин из каждой смеси тест-культур в нейтрализаторе готовили разведения до 10⁻⁵. По 0.5 мл смесей из разведений 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ и цельного нейтрализатора высевали на чашки со средами Эндо, ЖСА и Сабуро. Для контроля контаминированные тест-объекты погружали в стерильную воду на время экспозиции анолита, затем в раствор нейтрализатора. Из нейтрализатора после разведения в изотоническом растворе хлорида натрия делали высеив на питательные среды. Опытные и контрольные посеив инкубировали в термостате 48 ч, после чего подсчитывали число колоний на средах

в опыте и контроле, определяли число КОЕ/мл и фактор редуции числа бактерий в опыте по сравнению с контролем.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования антимикробных свойств анолита нейтрального на резиновых тест-объектах показали, что данный дезинфектант обладает высоким уровнем биоцидной активности в отношении всех изучаемых тест-культур микроорганизмов. Так, данными первой серии опытов установлено, что минимальная бактерицидная концентрация анолита нейтрального составляет 200 мг/дм³. Для синегнойной и кишечной палочек, а также стафилококка, кандид и протей в опытах без белковой нагрузки минимальная биоцидная концентрация (МБК) анолита нейтрального составила 150 мг/дм³ при экспозициях 30 и 60 мин. В отношении споровой палочки

все исследуемые анолиты при тех же экспозициях не вызывали полной гибели микроорганизмов. В опытах с добавлением в качестве белковой нагрузки 20% лошадиной сыворотки наблюдалась полная гибель микроорганизмов при минимальной концентрации анолита 200 мг/дм³ в экспозиции 60 мин.

Результаты второй серии опытов в количественном суспензионном тесте по

отношению к стандартным штаммам показали, что снижение колониеобразующих единиц во всех экспозициях, как с белковой нагрузкой, так и без неё, обеспечивали анолиты нейтральные №№ 2,3,4. Результаты исследования воздействия анолита нейтрального в его минимальной антимикробной концентрации 200 мг/дм³ приведены в таблице 3.

Таблица 3.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ АНОЛИТА НЕЙТРАЛЬНОГО В КОЛИЧЕСТВЕННОМ МЕТОДЕ НА РЕЗИНОВЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТАХ

Тест-культура	«Анолит»	Экспозиция 30 мин			Экспозиция 60 мин		
		KOE	log	RF	KOE	log	RF
E. coli DSM 787	«Анолит»	0	2,0	7,0	0	2,0	7,0
	Контроль	9 x 10 ⁶	6,9		9 x 10 ⁶	6,9	
	С 20% лошади.сыв.	0	2,0	7,0	0	2,0	7,0
	контроль	9 x 10 ⁶	6,9		9 x 10 ⁶	6,9	
P. aeruginosa DSM 939	«Анолит» 200 мг/дм ³	0	1,7	6,44	0	1,7	6,44
	Контроль	4 x 10 ⁶	6,6		4 x 10 ⁶	6,6	
	С 20% лошади.сыв.	0	1,7	6,44	0	1,7	6,44
	Контроль	4 x 10 ⁶	6,6		4 x 10 ⁶	6,6	
P. mirabilis DSM 700	«Анолит»	0	3,47	5,53	0	3,47	5,53
	Контроль	6 x 10 ⁶	6,8		6 x 10 ⁶	6,8	
	С 20% лошади.сыв.	0	2,0	7,0	0	2,0	7,0
	Контроль	6 x 10 ⁶	6,8		6 x 10 ⁶	6,8	
S. aureus DSM 346	«Анолит»	0	1,47	7,53	0	1,47	7,53
	Контроль	6 x 10 ⁶	6,8		6 x 10 ⁶	6,8	
	С 20% лошади.сыв.	0	1,0	8,0	0	1,0	8,0
	Контроль	6 x 10 ⁶	6,8		6 x 10 ⁶	6,8	
C. albicans ATCC 10231	«Анолит»	0	1,0	8,0	0	1,0	8,0
	Контроль	2 x 10 ⁶	6,3		2 x 10 ⁶	6,3	
	С 20% лошади.сыв.	0	2,0	7,0	0	2,0	7,0
	Контроль	2 x 10 ⁶	6,3		2 x 10 ⁶	6,3	

В отношении тест-культуры E.coli ATCC 11229 все изучаемые анолиты проявили 100% антибактериальную активность. Фактор редукции составил 7.0 lg. В культуре P.aeruginosa ATCC 15412 анолиты также обеспечили значительное снижение КОЕ по отношению к контролю. Фактор редукции в этом случае был 6.44 lg.

В опытах с тест-культурами P.mirabilis ATCC 14153 анолиты нейтральные №№ 3 и 4 вызывали полную гибель микроорганизмов, при этом фактор редукции составил 5.53 lg в опытах без

белковой нагрузки и 7.0 lg в опытах с добавлением 20% лошадиной сыворотки. Для S.aureus ATCC 6538 оказались эффективными нейтральные анолиты №№ 2 - 4, которые вызывали полную гибель бактерий и в присутствии 20% лошадиной сыворотки, и без неё. Фактор редукции равнялся 7.53 и 8.0 lg соответственно. В отношении тест-культуры C.albicans ATCC 10231 указанные анолиты также обеспечили значительное снижение КОЕ по отношению к контролю, фактор редукции при этом составил 8.0 lg в опытах без белковой

нагрузки и 7.0 lg – с добавлением 20% лошадиной сыворотки.

Таким образом, несмотря на то, что анолит нейтральный не вызывает полной гибели типовых культур на резиновых тест-объектах, при действии препарата в экспозициях 30 и 60 мин на носителях выживают единичные микробные клетки. Фактор редукции тест-культур при всех изученных режимах превышает 5 lg.

ВЫВОДЫ

1. Анолит нейтральный проявляет достаточно высокий уровень антимикробной активности ($RF > 5lg$) в отношении *S.aureus*, *E.coli* и *P.aeruginosa*, *P.mirabilis*, а также грибов рода *Candida* на резиновых носителях в концентрации 200 мг/дм³ в течение 30 и 60 мин.

2. Электрохимически активированный анолит нейтральный можно рекомендовать в качестве дезинфицирующего средства для применения в лечебно-профилактических, фармацевтических, санитарно-противоэпидемических и других учреждениях.

ЛИТЕРАТУРА

1. РД 64-125-91 «Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств» (GMP).
2. Приказ МЗ РБ № 130 от 06.06.94 г. «Об утверждении санитарно-гигиенического режима аптечных учреждений».
3. Практическое руководство по применению средств дезинфекции и стерилизации в лечебно-профилактических учреждениях. /Под ред. Авчинникова А.В. – Смоленск: СГМА, 2000. – 155 с.
4. А.П.Красильников. Справочник по антисептике. – Минск, «Вышэйшая школа», 1995. – С.172-179.
5. СанПиН 21-112-99 «Дезинфекционные средства и технологии. Нормативные показатели безопасности и эффективности дезинфицирующих средств».
6. Временные методические указания «Методы испытания противомикробной

активности дезинфицирующих средств» №47/18г от 24.12.98 г.

7. Методические указания «Методы испытания противомикробной активности антисептиков профилактического назначения» №11-13-1-97 г.

SUMMARY

A.B. YURKEVICH

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF ANOLIT NEUTRAL, OBTAINED ON THE TYPE "AQUAMED".

It is established, that anj-lite neutral, received by electrochemical way on installation such as "Aquamed", shows enough high level of antimicrobial activity ($RF > 5 lg$) in relation *S.aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *P.mirabilis*, and also mushrooms of sort *Candida* on rubber carriers in concentration of 200 mg / dm³ within 30 and 60 minutes. Electrochemical activated anolite it is possible to recommend as a disinfectant for application in treatment-and-prophylactic, pharmaceutical, sanitarial and other establishments.